Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Wachsmuth

Untersuchungen über Auswirkungen und Anwendungsmöglichkeiten lokaler Gefrierungen an der Leber

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Franz Kahlert
aus Osnabrück

Würzburg 1966

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544722_0025

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Wachsmuth

Untersuchungen über Auswirkungen und Anwendungsmöglichkeiten lokaler Gefrierungen an der Leber

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Franz Kahlert
aus Osnabrück

Würzburg 1966

Referent: Professor Dr. med. Kurt Stucke

Korreferent: Professor Dr. med. Werner Wachsmuth

Tag der Promotion: 15. 6. 67

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einführung	1
II.	Aufgabenstellung	3
III.	Methodik	4
	A. Die Kälteerzeugung	4
	B. Die Tierversuche	5
IV.	Physikalisch-chemische und biologische Erscheinungen im Gewebe, das extrem tiefen Temperaturen ausgesetzt ist	7
	1. "Die Ausdehnung"	7
	2. "Die Milieuveränderung'	8
V	Ergebnisse	9
	A. Makroskopischer Befund während des Gefrierprozesses und nach dem Auftauen	9
	B. Mikroskopischer Befund	14
	C. Epikrise	18
	D. Heilung in "klinischer" Sicht	20
VI.	Blutstillung durch Vereisen	21
VII.	Elektroincision und Vereisung	22
	a) Histologische Veränderungen nach einer Elektroincisio	23
	b) Elektroincision nach Gefrierung	23
VIII.	Lokale Gefrierung von Carcinomgewebe	25
IX.	Diskussion	26
X.	Zusammenfassung	29
XI.	Abbildungen	30
XII.	Literaturverzeichnis	I-III

Druckfehlerberichtigung :
S. 2, Abs. 2, 3. Zeile :
"Cryobiologie"

I. EINFÜHRUNG

Die Ausschaltung von krankhaft verändertem Gewebe, Blutstillung und Asepsis durch brennende oder glühende Gegenstände war den Ärzten schon seit Jahrtausenden bekannt. Im wohl ältesten Chirurgiebuch der Welt, dem "Papyrus EDWIN SMITH" (2800 v. Chr.), wird von einem Feuerbohrer zur Behandlung von Eiterherden berichtet (MEYERHOF). Bei HIPPOKRATES lesen wir: "Krankheiten, die Arzneimittel nicht heilen, heilt das Messer; die das Messer nicht heilt, heilt das Feuer; die das Feuer nicht heilen kann, muß man als unheilbar betrachten (freie Übersetzung). Bis in das 19. Jahrhundert hinein gehörte das Glüheisen zu dem unentbehrlichen Instrumentarium eines Wundarztes bei Kampfverletzungen, Entzündungen, blutenden Hämorrhiden u. a.

Diese recht brüsken, aber oft rettenden Eingriffe wurden erst in den letzten hundert Jahren durch die Fortschritte der modernen Technik von subtileren Methoden abgelöst. Die Forschungen über das Wesen des elektrischen Stromes ermöglichten eine neue Art der Hitzeerzeugung. Über die Galvanokaustik (MIDDELDORPF), den Platinthermokauter (PAQUELIN) bis zur Diathermie (v. ZEINEK, 1898) war der Weg nicht weit. Der bedeutendste Effekt dieser modernen Verfahren liegt in einer Gewebsdurchtrennung und Blutstillung in einem Operationsakt (25, 12, 4, 13).

Im Gegensatz zu dieser lokalen Hitzeanwendung vermochte man die Kälte in gleicher Weise nicht auszunutzen, obwohl ihre Auswirkungen auf die Lebenserscheinungen schon immer bekannt waren. Heißt es doch bei GALEN: "Kälte macht die Körper dichter, sie kontrahiert die Teile und hält sie zusammen". Aber als Heilmittel verabfolgte man sie lediglich in Form von kühlenden Bädern und Umschlägen. Seit dem 16. Jahrhundert wurde die Kälte zur örtlichen Betäubung herangezogen (Th. BARTHOLINUS). 1866 entdeckten RICHARDSON den Ätherspray, und wenige Jahre darauf RETARD, BAUDOUIN, u. a. das Chloroform zur lokalen Vereisung.

Gezielte, örtliche Kälteapplikation wandte 1851 ARNOTT an. Er untersuchte das Verhalten maligner Tumoren, die er einfrieren ließ. 1881 fror OPENSCHOWSKI circumscripte Hirnareale ein, wobei er auftretende Funktionsstörungen beobachtete (1, 21). Um in erster Linie pathologische Probleme aufzuklären, bedienten sich 1898 bzw. 1909 HOCKHAUS und CARRARO der lokalisierten Vereisung. Mit Kohlensäureschnee bzw. dem Chloräthylspray suchten sie an der Leber vom Kaninchen die "reinste Nekrose" hervorzurufen. Nach solch einer eng umschriebenen Parenchymgefrierung verfolgten beide die Regenerationsfähigkeit des Organes (5, 17).

Besonders seit LINDE's Entdeckung, Luft im großtechnischen Verfahren zu verflüssigen, sowie nach weiteren Fortschritten in der Kältetechnik hat sich ein Spezialgebiet, die Cytobiologie, entwickelt und zunehmende Bedeutung auch in der Medizin gefunden. Neben der noch recht umstrittenen Mageneinfrierung in der Ulcusbehandlung haben sich besonders die Neurochirurgen seit Einführung der stereotaktischen Operationen (SPIEGEL und WYCIS, 1949) der örtlichen, gezielten Gefrierung des Gehirns bedient. Auch in der Ophthalmologie fand die Cryomethode bei der Linsenextraktion ihren Einzug (12).

Die Empfindlichkeit gegenüber hohen und tiefen Temperaturen wird bei einer Art, Rasse, einem Organ oder einer Zelle eines Organismus recht unterschiedlich sein. Aber stets bedeuten massive Vereisung oder Verbrennung Absterben oder Tod.

Nun können aber einzelne Lebewesen traumatische Auswirkungen bei niedrigen oder hohen Temperaturen durch ihren anatomischen Bau und durch vielseitige Regelungsmechanismen mehr oder weniger verhindern und überleben. So konnten z. B. Frösche nach echter Unterkühlung bei einer Temperatur unter dem Gefrierpunkt ohne nachweisbare Schädigung wiederbelebt werden. Wir wissen auch, daß viele Bakterien und alle Virusarten in flüssigen Gasen gehalten werden können, ohne daß sie ihre toxische Aktivität verlieren. Bei ganz lokalen Hitze- oder Kälteeinwirkungen können sich einzelne Zellgruppen und Gewebe nicht in dem Ausmaß wehren.

In unseren Untersuchungen wollen wir das Verhalten der Leber auf solche örtliche Kältebehandlung prüfen und einige Vergleiche zur Hitzetraumatisierung ziehen.

II. AUFGABENSTELLUNG

HOCKHAUS und CARRARO befaßten sich bereits um die Jahrhundertwende mit der Regenerationsfähigkeit der Leber nach lokalisierter Kälteapplikation (5, 17). Wir wollen heute mit Hilfe eines modernen Verfahren, - in der Neurochirurgie schon mit Erfolg am Menschen angewandt - eng umschriebene Vereisungen an Kaninchenlebern durchführen und auf praktische Anwendungsmöglichkeiten bei leberchirurgischen Eingriffen hinweisen.

Gerade die Chirurgie der Leber hat in den vergangenen 20 Jahren einen stetigen, steilen Aufschwung erfahren, und jede größere Klinik ist jetzt gezwungen, Leberrupturen zu versorgen oder -resektionen vorzunehmen. Die entscheidenden Schwierigkeiten ergeben sich bei solchen Eingriffen aus der weichen Konsistenz und der enorm reichen Vascularisation dieses Organes. Neben den verbesserten Narkosemöglichkeiten hat nicht zuletzt die Hitzekoagulierung im Diathermieverfahren zu erfolgreichen Ergebnissen geführt (27, 28, 13).

Unsere tierexperimentellen Untersuchungen sollen nun den Nachweis erbringen, in wieweit das lokale Gefrieren eine zusätzliche Unterstützung bei Lebereingriffen darstellen kann.

Als Voraussetzung dafür werden wir uns der Reihe nach folgenden Problemen zuwenden:

1. Ausmaß und Art des gesetzten Schadens nach lokaler Vereisung.
2. Postoperative Heilung in klinischer, makroskopisch und histologisch-anatomischer Sicht.

3. Wirkung einer Gefrierung auf Parenchymblutungen bei künstlich gesetzten Rupturen und vorgenommenen Resektionen.
4. Vergleich zu Schädigungen bei örtlicher Hitzekoagulierung.
5. Das Verhalten von Carcinomgewebe auf Vereisung.

III. METHODIK

A. DIE KÄLTEERZEUGUNG

Wir arbeiten mit einem von I. S. COOPER und Ch. KELMAN entwickelten Gerät. Bei ihm dient als Kälteerzeuger der flüssige Stickstoff, der unter einem Druck von etwa 2 Atm. aus einem 25 l-Behälter über eine 160 cm lange Leitung in die eigentliche Kältesonde strömt. Dieses eigentliche Kernstück des Apparates weist eine Länge von 20, 8 cm und eine Breite von 4, 76 mm auf. Es ist, abgesehen von der abgerundeten Spitze, von einer vollkommen isolierenden Vakuumröhre umgeben. Den nicht isolierten Anteil kann man als Halbkugel mit einem Durchmesser von nur 2, 5 mm ansehen. Sobald das flüssige Gas mit einer Temperatur von $-196^{\circ}C$ hier anlangt, verdampft es, erwärmt sich und wird durch zwei weitere Leitungen in der Sonde von einer Vakuumpumpe abgesaugt. Wird die Spitze der Kühlkanüle auf Gewebe gehalten, vereist sie es augenblicklich. Durch eine elektronische Regelung, welche den Zufluß des Stickstoffes steuert, kann die Temperatur im Sondeninnern in recht weiten Grenzen, bis $-180^{\circ}C$, beliebig verändert oder konstant gehalten werden.

Das COOPER'sche Gerät läßt sich leicht bedienen, und eine übersichtliche Armaturentafel zeigt ständig die Regelungsvorgänge, die Druckverhältnisse, sowie die Temperatur in der Kältesonde an. Die Zuleitung, - Verbindung Sonde zum Stickstoffbehälter -, ist von einem sehr beweglichen Metallrippenschlauch umgeben, der eine leichte Führung der Kälte-

kanüle in die jeweils gewünschte Richtung ermöglicht. Bei reichlicher Füllung des Stickstofftankes wird nach Einschalten des Gerätes innerhalb von 2 Minuten der notwendige Druck erreicht (etwa 30 Pound - force per square inch; das entwpricht etwa 2 Atm.). Sobald das Regelungssystem arbeitet, kann der gewünschte Grad der Temperatur, der Sollwert, an einer Skala eingeschaltet werden. Der Istwert, die Temperatur in der Sondenspitze, erzielt nach wenigen Sekunden den Sollwert und kann gehalten werden. Die auf das Gewebe einwirkende Kälte entspricht nicht der in der Sonde herrschenden Temperatur. Der Kälteverlust beträgt etwa 1/3, wobei für extrem tief gewünschte Werte diese Differenz umfangreicher als bei geringeren Kältegraden ist. Besonders bei recht tiefen Temperaturen kann es zu einer erheblichen Wärmeströmung über die Oberfläche des isolierenden Außenmantel der Sonde zu deren Spitze kommen. So wird der das Lebergewebe treffende Kältestrom nur maximal eine Temperatur von -120°C bis -130°C erreichen können (6 - 11).

In seinen zahlreichen Arbeiten wird von I. S. COOPER, St. Barnabas Hospital, New York, die bei unseren Untersuchungen erprobte Kältemaschine ausführlich beschrieben und abgebildet.

B. DIE TIERVERSUCHE

Die Untersuchungen wurden an 50 Kaninchen beiderlei Geschlechts ausgeführt. Diese ausgewachsenen und im Gewicht variierenden Versuchstiere erhielten vor und nach den Eingriffen ihr normales Futter. Als Narkotikum bewährte sich Thiopental (Trapanal®), von dem als Initialdosis 2 ml iv. in den Ohrlöffel gespritzt wurden. Die Dauer jedes einzelnen Eingriffes betrug 25 bis 70 Minuten. Wir verloren vier Tiere vorzeitig durch letal ausgelaufene Narkosezwischenfälle.

Alle Operationen verliefen unter möglichster Einhaltung aseptischer Kautelen. Durch einen etwa 8 cm weiten Querschnitt dicht unterhalb des Rippenbogens fanden wir Zugang zur Leber. Bei leichtem Druck auf den Thorax ließ sich das Organ gut darstellen. Die Kaninchenleber ist durch zahlreiche Lappung ausgezeichnet. Für unsere Operationen wurden in der Regel die ventral und kaudal vorgeschobenen Anteile des Lobus dexter accessorius verwandt. Unter den ausgewählten Lappen schoben wir ein angefeuchtetes Mulltuch, um zu vermeiden, daß das vereiste Areal mit Gallenblase, anderen Leberanteilen und Magen verkleben konnte.

Nach diesen Vorbereitungen setzten wir die Kältesonde senkrecht auf die Leberkapsel und schalteten das Kältegerät ein. Der jetzt einsetzende Gefriervorgang soll in einem später folgenden Abschnitt noch genau beschrieben werden.

Sobald die Vereisungszone das gewünschte Ausmaß erreicht hatte, unterbrachen wir den Kältezustrom. Erst als das gesamte Gewebe wieder eisfrei war, wurde der Leberlappen an seine alte Stelle gerückt und die Operationswunde mit Nähten verschlossen. Prophylaktisch verabfolgten wir jedem behandelten Tier das Antibioticum Hostamycin ^{R}

Die Überlebenszeit der einzelnen Versuchstiere legten wir von wenigen Minuten, über Stunden und Tage bis drei Monate fest. Bei drei Kaninchen wurde das Lebergewebe im noch gefrorenen Zustand entnommen. Als Fixierlösung diente ein Gemisch nach CARNOY. Dieses Härtungsmittel setzt sich folgendermaßen zusammen: Absoluter Alkohol 60 %, Chloroform 30 %, Eisessig 10 % Anteil.

IV. PHYSIKALISCH - CHEMISCHE UND BIOLOGISCHE ERSCHEINUNGEN IM GEWEBE, DAS EXTREM TIEFEN TEMPERATUREN AUSGESETZT IST

Es ist anzunehmen, daß bei einem verhältnismäßig raschen und extremen Temperaturwechsel lebende Zellen im allgemeinen wie tote Systeme reagieren (22). Auch bei unseren Versuchen wird ein kleiner, scharf begrenzter Bezirk der Leber von einem äußerst schnellen Temperaturabfall betroffen. Dieser plötzliche Eingriff bewirkt also keine Stoffwechseldrosselung, sondern vielmehr -stillstand, zumal höhere Zentren, wie das Kältezentrum im Gebiet des Hypothalamus,nicht regelnd eingreifen können. Wir haben es auch nicht mit einer Unterkühlung, sondern mit einem örtlichen Kältetrauma zu tun, auf das Zellen und Gewebe wie bei jedem anderen, z. B. Stoß oder Druck reagieren muß. Lediglich die Intensität dieses Traumas und der Schweregrad seiner Auswirkung werden sich in unserem speziellen Fall zu anderen, wie z. B. auch der Hitzekoagulation, unterscheiden. Dafür mag allgemein gelten:
Das Ausmaß der zu erwartenden Schädigung wird abhängig sein von:

1. einer Eisbildung
2. der einwirkenden Temperatur
3. der Geschwindigkeit des Temperaturwechsels
4. ihre Einwirkungsdauer

Diese vier Faktoren sind durch unsere angewandte Methodik und durch das Cryogerät festgelegt. Da es bei allen Kälteversuchen stets zu einer Eisbildung kam, wollen wir zwei wichtige Phänomene bei der Änderung dieses Aggregatzustandes herausstellen.

1. "Die Ausdehnung"

Beim Übergang vom flüssigen in den festen Zustand dehnt sich im Gegensatz zu den meisten anderen Flüssigkeiten das Wasser aus. Diese Ausdehnung um 1/11 seines Volumens ist darauf zurückzuführen, daß das Eis ein weitmaschiges, von zahlreichen Hohlräumen durchsetztes Kristallgitter

(von SiO_2 - Struktur) bildet, während im flüssigen Wasser, bei dem diese Kristallstruktur weitgehend zerstört ist, die Moleküle wie bei jeder Flüssigkeit zu einer dichten Kugelpackung zusammengelagert sind. Bei sehr schnellem und tiefen Gefrieren wird das Kristallnetz engmaschiger aufgebaut und dürfte deshalb nicht so viel Raum beanspruchen (22). Ob sich nun die gerade besprochene Ausdehnung in unserem Fall durch ein Zerreissen der Zellelemente auswirken wird, werden wir bei der Besprechung der Histologie aufzuklären haben.

2. "Die Milieuveränderung"

Gefrieren im eigentlichen Sinn setzt die Anwesenheit von Wasser voraus; dieses ist im tierischen Gewebe in hohem Maße vorhanden. So zeigt die Leber folgende chemische Zusammensetzung:

70 % Wasser
18 - 20 % Eiweiß
4 % Phosphorlipoide
2 % Neutralfette
wechselnde Mengen von
Glycogen
weiter: Nucleinsäuren
Mineralien
Spurenelemente (23).

Sinkt die Temperatur unter den Gefrierpunkt, dann scheidet sich, wie oben beschrieben, das Wasser als Kristallgefüge ab. Denn es wird - bei unseren Versuchen gerade im engen Bereich der Sondenspitze - sofort der eutektische Punkt erreicht; d. h. in diesen Zellen übersteigt die Konzentration der Flüssigkeit das Löslichkeitsprodukt der gelösten Stoffe, und diese scheiden sich dann gemischt mit Eis ab.

Während dieses Vorganges wird nicht nur das freie Wasser, sondern auch das gebundene (z. B. Hydratmantel um Eiweißmoleküle) entzogen. Somit kommt es während der Vereisung zu einer Schrumpfung des Protoplasten und zu einer Anhäufung von Ionen. Das Plasma dürfte dabei

koagulieren, wenn man bedenkt, daß schon ein Nadelstich diesen Vorgang bewirken kann. Sichtbar und für die Zellen wirksam wird der Schaden erst beim Auftauen. Dabei strömt das Schmelzwasser, angezogen von der hohen Ionenkonzentration, in das "ausgetrocknete" und geschrumpfte Protoplasma, wird aber seine normale physiologische Verteilung nicht mehr erreichen. So wirkt die hohe Ionenkonzentration zusätzlich toxisch.

In wieweit Unterkühlungsprozesse, inter- oder intrazelluläre Vereisung bei tiefen Temperaturen im Gewebe auftreten, ist sehr umstritten. Für unsere Kälteversuche dürften sie aber kaum entscheidende Bedeutung einnehmen, da die Kühlungsgeschwindigkeit = Temperaturdifferenz / Zeiteinheit bei der Arbeitsweise der COOPER'schen Apparatur sehr hoch ist. Verglasung (Vitrifikation) wie sie z. B. bei Viren oder Bakterien in flüssigen Gasen entsteht, wird in unserem Fall ebenfalls nicht auftreten (22).

V. ERGEBNISSE

A. MAKROSKOPISCHER BEFUND WÄHREND DES GEFRIER-PROZESSES UND NACH DEM AUFTAUEN

a) Gefriervorgang

Hier sei ein Versuch aus unserer Reihe herausgegriffen und genau geschildert. Bei allen übrigen Gefriervorgängen waren fast die gleichen Beobachtungen zu machen.

Die Kältekanüle, senkrecht zum Organ gehalten, ruht auf der Leberkapsel. Jetzt wird der Temperatursollwert auf $-180^{\circ}C$ eingeschaltet. In knapp 30 Sekunden erreicht die wirkliche Temperatur diesen gewünschten Wert. Allerdings wirken jetzt direkt auf das Gewebe $-120^{\circ}C$. Wenn wir an der Leberoberfläche eine Temperatur von etwa $+30^{\circ}C$ voraussetzen, finden wir somit eine Abkühlungsgeschwindigkeit von etwa $5^{\circ}C$

in der Sekunde. Das gilt jedoch nur direkt an der Berührungsstelle der Sondenspitze mit der Leber.

Sofort nach dem Einsetzen des Kälteflusses verklebt die Sonde fest mit dem Organ. Gleichzeitig hebt sich ein etwa linsengroßer, weißer Bezirk ab, der in 30 Sekunden nahezu kreisrund bis auf einen Durchmesser von 12 mm anwächst; nach 2 min beträgt er 17, nach 3 min 18, nach 4 min 20, nach 5 min 21 und schließlich nach 10 min 22 mm. In den ersten 3 Minuten geht das Eiswachstum sehr rasch voran, um dann in der Folgezeit erheblich langsamer vorzudringen und schließlich ganz zum Stillstand zu kommen.

Das Leberparenchym ist sichtbar gefroren, glatt und steinhart. In der zweiten Hälfte des Gefrierprozesses bildet sich auf der vereisten Kapsel eine dünne Reifschicht, die auch ungefähr 1 cm an der Sondenspitze hinaufzieht.

Das Eiswachstum kann sich an der Oberfläche des Organes rascher als in seinem Innern ausbreiten. Wurde doch in der Kaninchenleber eine Temperatur von +40, 5 $^{\circ}$C gemessen (rund 1 $^{\circ}$ höher als die Rectaltemperatur) (22). So ist dem Kältefluß aus der Kanüle ein Wärmestrom vom Leberzentrum gegenübergestellt. Daraus ergibt sich die von uns stets beobachtete Schalen- bzw. Uhrglasform des gefrorenen Areals im Querschnitt (vgl. auch 2).

Weiter zeigt sich auch nach einer Gefrierzeit von etwa 4 Minuten, daß die Vereisungszone hiluswärts nicht so rasch wie gegen die Peripherie des Organes zuwächst, so daß diese mehr eine eliptische als eine runde Form zeigt; dabei weist der größte Teil der Gefrierfläche, von der Sondenspitze gesehen, zum Leberrand hin. Das reichlich vom Hilus heranströmende Blut setzt der sich ausbreitenden Kälte einen zusätzlichen, erheblichen Widerstand entgegen. Im Zentrum unseres behandelten Lappens fanden wir auch immer ein großkalibriges Gefäß (14).

Bei unserem mit der Beschreibung begonnenen Versuch dauert es demnach auch fast 5 Minuten, bis der etwa 1 cm dicke Leberlappen durchge-

froren ist. In diesem Augenblick sieht man deutlich, daß peripher bis zum Rand des Organes das gesamte Parenchym einfriert, während hiluswärts kaum noch ein weiteres Vordringen des Eises erfolgt.

In 10 Minuten erreichten wir bei diesem Vereisungsvorgang einen steinharten Bezirk mit einem Durchmesser von 22 mm. Bei einem anderen Kaninchen wuchs die gefrorene Zone auf 32 mm Breite an, obwohl Einwirkungsdauer und Intensität der Kälte die gleichen waren. Demnach spielt auch der Standpunkt der Kanüle auf der Leber eine entscheidende Rolle; denn die Gefrierzone wächst im Gebiet des Leberrandes rascher als in Hilusnähe. Das größte von uns gemessene, sichtbar gefrorene Areal betrug bei tiefster Temperatur und einer Einwirkungsdauer von 30 Minuten im Durchmesser 52 mm. HASS und TAYLOR vereisten 1948 mit zwei Hypothermieinstrumenten, einer Kühlplatte von verstellbarer Größe und einer Kühlnadel, die mit flüssigem CO_2 gespeist wurde, Herz, Gehirn, Niere und Leber. Mit der Kühlnadel erreichten sie an der Leberoberfläche einen maximal gefrorenen Durchmesser von 14 mm, sowie eine Tiefe der zylindrischen Läsion von 35 mm. Bei der Kühlplatte lagen die Maße etwas niedriger (26, 14).

Wird nun der Kältezufluß gestoppt, - um uns wieder der begonnenen Beschreibung des Versuches zuzuwenden -, verschwindet zuerst der sich auf dem Eis und dem Sondenende gebildete Reifbelag. Dabei taut das gefrorene Gebiet noch nicht sichtbar auf. Erst nach 3, 5 Minuten löst sich die Kältekanüle spontan von der Leberkapsel, ohne daß an ihr Gewebe haften bleibt. Nach weiteren 7 Minuten finden wir das Organ völlig eisfrei. So dauert das Abtauen fast genau so lange wie das Gefrieren. Um den Abtauvorgang zu verkürzen, tropften wir angewärmte physiologische Kochsalzlösung auf das noch steinharte Parenchym, was eine erheblich raschere Sondenablösung und ein schnelleres Tauen bewirkte. KANDEL, der etwa zur gleichen Zeit wie COOPER einen ähnlichen mit flüssigem Stickstoff arbeitenden Kälteerzeuger entwickelt hat, läßt direkt nach der Kältegabe Wasser von $+80^{\circ}C$ in die Sonde pumpen. Dabei verringerte sich die Auftauzeit um die Hälfte (19).

Setzt man die Kühlsonde nach Abtauen des Gewebes abermals an derselben Stelle der Leberkapsel auf, dann wird bei gleicher Intensität und Einwirkungsdauer der Kälte ein größerer Vereisungsbezirk erreicht. In einer anschließenden Tabelle sind Beispiele für die zuletzt gemachten Angaben zusammengestellt.

I. - 180°C, Dauer der Kältezufuhr: 10 min

Zeit	Größe der gefrorenen Zone im Durchmesser	
	1.	2.
nach 30 sek	12 mm	12 mm
90 sek	16 mm	16 mm
180 sek	18 mm	21 mm
360 sek	21 mm	25 mm
600 sek	22 mm	31 mm

II. - 140°C 2 min

	3.	4.
nach 30 sek	10 mm	10 mm
90 sek	13 mm	16 mm
120 sek	15 mm	17 mm

III. - 140°C 2 min

	5a.	5b.
nach 30 sek	8 mm	9 mm
90 sek	13 mm	16 mm
120 sek	14 mm	17 mm

Die Versuche 1. - 4. wurden an vier verschiedenen Kaninchen durchgeführt. Während der 2. und 4. Kältebehandlung ruhte die Kanüle nahe am Leberrand; bei dem 1. und 3. Versuchstier suchten wir eine Stelle nicht weit vom Hilusgebiet entfernt aus. III zeigt ein wiederholtes Aufsetzen der Sonde nach dem Abtauen. Die Größenzunahme der Kälteläsion bei Versuch 2 und 4 sowie bei 5b zeichnet sich deutlich ab.

In einem Fall beobachteten wir während des Kältezuflusses das plötzliche Auftreten eines Sprunges im vereisten Gewebe. Nach dem Abtauen wurde auch ein kurz andauernde Blutung an gleicher Stelle wahrgenommen. Besonders bei sehr langer Sondeneinwirkung muß man mit solchen geringfügigen Rissen im hart gefrorenen Gewebe rechnen.

b) Verlauf der Kälteläsion nach dem Abtauen

Nach Aussetzen der Kältezufuhr taut die vereiste Leberzone vom Rand zur Mitte hin allmählich auf. Im gleichen Umfang des vorher gefrorenen Gebietes zeigt die Oberfläche des Organes eine leichte Erhabenheit von braun-violettem Kolorit. In ihr verbleibt der Abdruck der Sondenspitze noch einige Minuten. Das geschwollene Gewebe nimmt nach einigen Stunden mehr eine weiß-graue Färbung an, welche nach etwa zwei Tagen ins buttergelbe übergeht. Auch die Schwellung ist dann nicht mehr wahrzunehmen.

Wenn man bei den einzelnen Operationen möglichst gewebsschonend vorgeht, lassen sich Verwachsungen vermeiden, die später eine Darstellung des Leberdefektes erschweren. Eine Wanderung des Omentums an diese Stelle läßt sich allerdings oft nicht umgehen. Dabei verklebt es fest mit dem kältegeschädigten Leberteil.

14 Tage nach dem Eingriff nimmt die Kälteläsion eine braun-rosa Farbe an und wird unter Einsenkung in das Organ zusehends kleiner. Zwei bis drei Monate später ließ sich die behandelte Stelle nicht mehr auffinden.

B. MIKROSKOPISCHER BEFUND

Außer dem Gewebe im Bereich der Gefrierläsion fixierten wir noch zur Kontrolle jeweils ein Stückchen Parenchym aus einem weiter entfernten Leberlappen.

Von allen Präparaten wurden folgende Färbungen angefertigt:

1. Hämatoxylin - Eosin (HE).
2. Eisenhämatoxylin - Pikrinsäurefuchsin nach V. GIESON.
3. Färbung nach GOLDNER.
4. Die SCHIFF'sche Perjodsäurereaktion (PAS), durch die das Glycogen dargestellt wird.

In der mikroskopischen Morphologie unterscheidet sich die Leber des Kaninchens nur wenig von der des Menschen. Die Lobuli werden nicht durch ein deutlich wahrnehmbares Bindegewebsseptum umgeben, wie z. B. beim Schwein. Eine besondere Ausnahme bei unseren Versuchstieren bilden größere Venen im spärlichen Bindegewebe der dünnen Kapsel.

Für die Bewertung der angefertigten Präparate sind zunächst zwei Gesichtspunkte zu berücksichtigen, da wir durch die Regelungsbreite des COOPER'schen Gerätes eine vom Organ noch tolerierte Temperatur um den Gefrierpunkt herum nicht erreichen konnten. Wurde z. B. ein Sollwert von $\overset{+}{-}$ $0^{\circ}C$ eingestellt, so pendelte der Istwert im gewünschten Zeitraum etwa zwischen + 5° und - $5^{\circ}C$. So stellten wir stets eine Vereisung fest. Weiterhin ist zwar die lokale Ausdehnung des zu erwartenden Schadens, eben seine Quantität von den schon weiter oben beschriebenen Faktoren wie Temperaturabfall, Einwirkungsdauer u. a. abhängig. Die Qualität der Schädigung, der erste mikroskopische Befund sowie der weitere Verlauf der Läsion, wird aber immer das gleiche Bild ergeben. Denn schädigendes Agens stellt, wie schon herausgestellt, allein die Eiskristallbildung dar. Nachfolgend werden nun Präparate aus den einzelnen Gefrierläsionen nach der Dauer ihrer Überlebenszeit besprochen.

1. In drei Fällen trennten wir das vereiste Gewebsstück sofort aus der Leber heraus und fixierten es im gefrorenen Zustand. Betrachten wir nun ein solches Präparat bei Lupenvergrößerung, dann fällt auf, daß Kapsel, Läppchenstruktur und Periportalfelder erhalten geblieben sind. Alle Zellgrenzen heben sich noch deutlich ab. Bei näherer Besichtigung finden wir jedoch eine erhebliche Zell- und Kernpyknose. Dabei zeigt das Zytoplasma eine mäßige Verdichtung und stärkere Granulierung. Die Interzellularräume sind besonders dicht unterhalb der Kapsel erweitert und mit Flüssigkeit und Blutkörperchen gefüllt. In den vor allem am Rand dilatierten Gefäßen ist das Plasma festgehalten und besser als bei einer normalen Fixierung dargestellt. Die PAS - Färbung läßt ein ganz uneinheitliches Bild erkennen. Das Glycogen ist in unregelmäßigen Feldern herausgelöst, die dann abgeblaßt erscheinen. Nur in den Randgebieten, dicht unterhalb der Kapsel und um die Zentralvenen tritt es noch verstärkt auf.

2. Zwei Minuten nach völligem Abtauen finden wir die Leberzellen zytoplasmaarm und reich an Vakuolen. Sie erscheinen leicht geschwollen und lassen vielfach ihre basophilen Granula vermissen. Die Zellgrenzen, verdichtetes Cytoplasma, sind deutlich herausgehoben und wirken jetzt beinahe fadenförmig. Doch ist eine graduelle Schädigung der einzelnen Hepatozyten zu beobachten. So zeigen auch einige, besonders in der Nachbarschaft der GLISSON'schen Felder, keine auffälligen pathologischen Veränderungen. Die meisten Zellkerne sind erheblich geschrumpft und weisen oft bizarre Formen auf. Der normale Aufbau des Lebergewebes, Zellstraßen, Periportalfelder und Kapsel sind in ihrem normalen Zusammenhang verblieben. Unter der Kapsel finden wir aber ausgedehnte Blutseen. Auch die enorme Füllung der Gefäße in den Randpartien ist recht auffällig. Der ehemals gefrorene Bezirk scheint jetzt glycogenreicher zu sein, was aber wohl durch eine grobschollige und vakuoligere Anordnung vorgetäuscht wird. Eine besondere Häufung findet sich auch hier um die Lichtungen der Zentralvenen und dicht unterhalb der Kapsel (Abb. 1).

Nach 15 und 30 Minuten Überlebenszeit ändert sich das lichtmikroskopische Bild nur sehr wenig.

4. Deutlich hebt sich der ehemals gefrorene Anteil vom kälteverschonten Gewebe ab, sobald ein solches Leberpräparat nach einer Stunde Überlebenszeit betrachtet wird. Bei allen vier Färbemethoden finden wir eine markante Aufhellung des Gewebes, die aus einem Mangel an basophilen Körpern und dem zunehmenden Glycogenschwund im Cytoplasma herrührt. Während die einzelnen Acini und die Periportalfelder keine Zerstörungen erkennen lassen, finden wir jedoch die einzelnen Hepatozyten bereits ganz erheblich geschädigt. Bei manchen Zellen vermissen wir die Kerne überhaupt. Lediglich die einreihige ununterbrochene Grenzplatte GRAFFLINs, deren Zellen schon normalerweise kleiner und glykogenärmer sind, zeigen Kern- und Plasmaveränderungen der übrigen Hepatozyten nicht in solchem Ausmaße. Immer noch auffällig sind größere Blutseen in den interzellulären Räumen unterhalb der Kapsel.

5. 2, 5 Stunden nach dem Eingriff zeigt sich der Glycogenschwund im PAS-Bild immer deutlicher. Schon jetzt finden sich am Rande zum unversehrten Gewebe die ersten Leukozyteninfiltrate. Nunmehr läßt die Läppchenstruktur nicht mehr überall ihre normale Einheit erkennen. Einige Leberzellbalken sind jetzt schon völlig durchbrochen. Die Interzellularräume erscheinen enorm geweitet. Teils sind die Sinusoide prall mit Erythrozyten gefüllt und wirken wie ausgegossen. Recht unterschiedliches Aussehen zeigen die Hepatozyten; während einige durch die Flüssigkeitsansammlungen zusammengedrückt und aus ihrem Verband herausgedrängt sind, sehen wir andere vergrößert, wobei das Cytoplasma in wabige Stränge umgewandelt worden ist. Bei den letzteren sind die Kerne völlig geschwunden.

6. Nach 12 Stunden Überlebenszeit löst sich die Struktur der Lobuli besonders in den Randgebieten immer deutlicher auf, während diese Zerstörung im Zentrum und unter der Kapsel noch nicht das gleiche Ausmaß angenommen hat. Auch in den GLISSON'schen Feldern und den Zellen der Grenzplatte können wir jetzt stärkere Veränderungen wahrnehmen. Das

kollagene Bindegewebe lockert sich auf und wird massiv von Erythro- und Leukozyten durchsetzt. Auch Hämosiderin findet sich hier an vielen Stellen abgelagert. Die Leber- und KUPFFER'schen Sternzellen beginnen sich aufzulösen. Die Lumina der Zentralvenen wirken wie zerrissen und sind im Gesamtbild nur noch schwerlich nachzuweisen.

7. 24 Stunden nach Setzung der Cryoläsion läßt sich der ganze vorher vereiste Bezirk in mehrere nahezu scharf abgrenzbare Zonen einteilen (Abb. 2). Dem völlig intakt gebliebenen und vom Kältestrom nicht betroffenen Lebergewebe schließt sich ein schmales Band graduell verschieden stark geschädigter Parenchymzellen an. Hier sind auch noch die periportalen Felder weitgehend erhalten geblieben. Doch zeigt sich schon eine geringfügige Verdichtung des Bindegewebes, das durch Brücken in direkter Verbindung mit dem interlobulärem Gewebe der unversehrten Leber steht. Die normalerweise mit einer einheitlichen Schicht von flach zylindrischem Epithel ausgekleideten Gallengänge beginnen auszusprossen. Dabei sind die ersten Mitosen in diesen Epithelzellen deutlich zu beobachten (Abb. 3). Diesem mehr oder weniger geschädigten Lebergewebe folgt ein geradezu kreisrunder, dichter Leukozytenwall, der wiederum ein fast amorphes, mit nur einzelnen Leukozyten und Kerntrümmern durchsetztes, Gewebe im Zentrum der Läsion umgibt. Hier vermissen wir jegliche normale Struktur des histologischen Leberzellbildes. Das dichte Leukozytenband zieht sich auch unter der bindegewebig aufgelockerten Kapsel entlang.

8. 2 Tage nach der Operation bemerken wir ein stärkeres Eindringen der Leukozyten aus ihren Wall in das Zentrum der Läsion. Das schon vorher deutlich aufgelockerte Bindegewebe der Randzone beginnt enorm zu proliferieren. In diesem Granulationsgewebe wuchern zahlreiche Gallengangsprossungen. Dabei beobachten wir nun in den zylindrischen Epithelzellen ein gehäuftes Auftreten von Karyokinese. Leberzellen, die durch das kollagene Bindegewebe von der Läsion getrennt sind, weisen ein viel dichtere Protoplasmastruktur als normal auf; sie gleichen fast völlig den Zellen der Grenzplatte. Wie diese sind sie auch kleiner und stärker basophil gefärbt. Auch lassen sie jetzt gehäuft Mitosen erkennen (Abb. 5).

9. Infolge der zahlreichen Teilungsvorgänge in den Hepatozyten am Rand der Läsion treten in den nächsten 2 - 3 Tagen schwer abgrenzbare Zellstränge mit zahlreichen Leberzellkernen auf. Auch im proliferierten, kollagenen Bindegewebe zeigen sich vereinzelt Riesenzellen mit vielen Kernen.

10. Beobachtet man die nächsten 14 Tage weiter, dann wird der gesamte Defekt von kollagenem Bindegewebe durchsetzt. Darin finden sich sehr zahlreiche Hämosiderinherde abgelagert (Abb. 6).
Die Gallengangsproliferationen sowie die Riesenzellbildungen setzen sich nach einer Woche Überlebenszeit kaum noch fort. Dagegen finden wir am Rand der Läsion noch Parenchymzellen in einzelnen Mitosephasen.

11. Etwa 3 Wochen nach dem Eingriff zeigt sich der mit kollagenem Bindegewebe vollkommen durchsetzte Leberbezirk bereits erheblich verkleinert. Besonders an den Randpartien unterhalb der Leberkapsel beginnt normales Leberparenchym deutlich vorzudringen. Nach einer Überlebenszeit von 2 Monaten ließen sich weder makroskopische noch histologische Anzeichen unserer gesetzten Kälteläsion nachweisen.

C. EPIKRISE

Nach Auftauen des vereisten Gewebes kommt es zur Ausbildung eines Kälteödems, das sich nur auf das vorher gefrorene Gebiet beschränkt und scharf von seiner Umgebung abgegrenzt ist. Durch die Eiskristallbildung ist es nämlich zu Permeabilitätsänderungen in den Kapillarwänden gekommen, so daß Plasma in größeren Mengen heraustreten und sich im Gewebe sammeln konnte.

Da auch das Blutplasma in den Gefäßen gefriert, wird der Strom gestoppt, es kommt zur Stase. Dabei konglutinieren die Erythrozyten zu einer homogenen Säule. Die von uns beobachteten Hämosiderinablagerungen beweisen eine irreversible Schädigung der roten Blutkörperchen. Vor dem zunächst hart gefrorenen Gewebsblock staut sich das Blut, so daß die Gefäße

dilatieren. Nach dem Auftauen ergibt sich eine stärkere Füllung der Capillaren, in denen das Blut gewissermaßen aus der nicht geschädigten Umgebung in den blutleeren Herd einzuströmen trachtet. Da dort infolge der Permeabilitätsänderungen ein regelrechter Kreislauf nicht mehr in Gang zu bringen ist, bleibt das Blut im Bereich des Läsionsrandes in den erweiterten Gefäßen liegen und tritt auch aus ihnen heraus; so kommt es zu dem Auftreten zahlreicher, größerer Blutseen.

Bei Betrachtung des noch im gefrorenen Zustand fixierten Leberparenchyms finden wir keine "Zerreißung" der einzelnen Zellen. So wirkt sich der ausdehnende Faktor bei der Änderung des Aggregatzustandes nicht unmittelbar aus. Dies dürfte aus dem äußerst raschen Gefrierprozeß resultieren, wobei sich das Kristallnetz viel engmaschiger aufbaut als bei einem langsameren Temperaturabfall. Deshalb können wir die vielfach erwähnten Rupturen der "Zellwände" bei Vereisung in unserem Fall nicht bestätigen. Der entscheidend schädigende Faktor bei unseren Kälteversuchen liegt vielmehr in einer Milieuveränderung der biochemischen Zusammensetzung in den Zellen. Wir haben die Erhöhung der Elektrolytkonzentration und die Wasserverschiebungen erwähnt. Beide, und das Vorhandensein von Eiskristallen, dürfen wir für die Zellschädigungen verantwortlich machen. Zunächst schrumpfen die Kerne so, daß ihre Begrenzungen bizarre Formen annehmen. Dabei sintert das Chromatin zu einem dichten Klumpen in der Kernmitte zusammen (Pyknose), um dann schließlich zu zerfallen oder aufgelöst zu werden. Gleichzeitig mit dem Schwinden des Kernes verändert sich auch das Cytoplasma. Entweder häuft es sich zu einer homogenen mit Eosin anfärbbaren Masse an oder es wird zu wabigen Strängen aufgetrieben. Schließlich verschwindet dann die Zellstruktur vollkommen. Dieser Zustand wird nach unseren Beobachtungen etwa 24 Stunden postoperativ erreicht. Ein Verlust an Funktionsleistungen läßt sich bei den einzelnen Hepatozyten bereits anfangs durch ein Schwinden des Glykogens nachweisen. Der ganze Verlauf der Kälteläsion zeigt demnach den Zustand einer Koagulationsnekrose. Bald nach Ausbildung einer Parenchymschädigung setzen schon Prozesse

des Abbaues und der Wiederherstellung ein. Die koagulierten Eiweißkörper rufen schon 2 - 3 Stunden nach Setzung der Kälteläsion eine leukozytäre Reaktion hervor. Etwa einen Tag später finden wir eine vollständige Demarkation in Form eines breiten Leukozytenwalles (Abb. 2). Gleichzeitig - also ungefähr 24 Stunden nach dem Eingriff - beginnen Zellen zu wuchern, um den Defekt zu schließen. Dieses Reparationsgewebe setzt sich nahezu ausnahmslos aus kollagenen Bindegewebszellen und zahlreichen Gallengangsproliferationen zusammen. Nach etwa 14 Tagen sind die gesamten nekrotischen Massen verschwunden. 2 Monate nach der Operation ließ sich die bindegewebig durchsetzte Läsion trotz Anfertigung von Serienschnitten nicht mehr auffinden. In wieweit sich wieder voll funktionsfähige Hepatozyten neubilden, konnten wir nicht feststellen. Daß sich aber auch die Parenchymzellen an der Reparation beteiligen, beweisen die von uns vielfach beobachteten Mitosen in den von Eisbildung verschonten Zellen; weiterhin die eigenartigen Umwandlungen der am Rand der Nekrose liegenden Zellen, sowie die schlecht abgrenzbaren Plasmastränge mit zahlreichen typischen Leberzellkernen. Aber eine "echte" Regeneration liegt wohl nicht vor. (vgl. auch 27, 28).

D. HEILUNG IN "KLINISCHER" SICHT

Die bislang besprochenen Eingriffe wurden von den Kaninchen ausnahmslos gut überstanden, und alle Tiere zeigten postoperativ ihr normales Verhalten. In keinem Fall beobachteten wir eine Sekundärinfektion.

Parallel zu diesen Untersuchungen wurde bei einem Teil unserer Kaninchen in bestimmten Zeitabschnitten nach der lokalen Kälteapplikation die Serumaktivität der Transaminasen (SGPT/SGOT) gemessen. Die anfänglich erhöhten Werte fielen etwa nach 3 - 4 Tagen wieder auf ihre Norm ab.

VI. BLUTSTILLUNG DURCH VEREISUNG

Waren die Untersuchungen über eng umschriebene Ausschaltung von Lebergewebe durch sehr tiefe Temperaturen mehr von grundlegendem Interesse, so können die Ergebnisse aus den folgenden Kapiteln auch praktisch Anwendung finden.

1955 berichteten SERRA und BRUNSWIG von Leberresektionen an Hunden. Bei diesen Eingriffen legten sie an die stark blutende Schnittwunde des Organes ein "Liquid - Nitrogen - Knife" (LNK), eine Art Hohlmesser, in das flüssiger Stickstoff gepumpt wurde. Dabei gefror das Gewebe unter einer Kälteeinwirkung von 10 Minuten 2 - 3 cm in die Tiefe, und die massive Blutung kam augenblicklich zum Stillstand. Nach dem Wiederauftauen blutete es lediglich aus wenigen Arteriolen. Auch nach mehrmaligem Anlegen des Kältemessers änderte sich an diesem Zustand nichts. Jedoch die gefürchtete diffuse Parenchymblutung blieb nun aus. Die betreffenden Arteriolen waren so deutlich markiert, daß sie, wie die Autoren berichten, leicht mit einer Pinzette gefaßt und abgebunden werden konnten. Aus den Resektionsstellen sei es zu keinen Nachblutungen gekommen, und alle Hunde sollen die Eingriffe gut überstanden haben. Schließlich wird in dem Bericht noch darauf hingewiesen, daß dieses Gefrierverfahren im Anschluß an die Tierversuche auch bei zwei partiellen Lobektomien am Menschen erfolgreich angewandt worden sei (24).

Obwohl sich die COOPER'sche Sonde nicht besonders gut zu raschen, flächenhaften Vereisungen eignet, hielten wir sie auch auf blutende Resektionswunden. Weiter oben wurde schon beschrieben, daß wir bei drei Kaninchen das gefrorene Areal aus der Leber heraustrennten und sofort fixierten. Dabei schnitten wir mit einem Skalpell möglichst scharf am Rand des vereisten Parenchyms entlang. Sofort setzte eine massive Blutung ein. Dies war zu erwarten gewesen, da sich das Blut in den dilatierten Gefäßen vor der Eisbarriere staute.

Einem Tier legten wir durch diesen Parenchymdefekt mehrere Ligaturen und verschlossen ihn durch ein gleichzeitiges Heranziehen und Vernähen des Omentums. Bei den beiden anderen Tieren wurde die Kältesonde auf die blutende Schnittfläche gehalten. Der resezierte Teil war nur etwa groschengroß und lag am Rand des Organes. Bei maximaler Temperaturherabsetzung ließ sich die angeschnittene und heftig blutende Gewebsfläche vereisen. Dabei wuchs die gefrorene Zone etwa 5 mm in das Organ hinein. Der Blutstrom kam sofort zum Stehen. Auch nach dem Auftauen sickerte nur wenig Blut aus einem kleinen Gefäß im Zentrum der Schnittfläche. Diese Arteriole ließ sich aber leicht abbinden. Weitere Manipulationen wurden unterlassen, und wir verschlossen sofort die Bauchwunde. Während das erste Versuchstier infolge einer massiven Blutung in den Peritonelaraum verendete, überlebten die anderen Kaninchen diesen Eingriff. Bei einer 6 Wochen später erfolgten Autopsie fanden wir die Leberwunde vernarbt und mit dem Omentum verwachsen.

Das Gefrieren ruft Stase und Erythrozytenkonglutinationen hervor. Diese führen wiederum zu Thrombenbildungen, welche die Kapillaren abdichten. Indessen können größere Gefäße durch den in ihnen herrschenden erhöhten Druck diesen Widerstand leicht überwinden und weiterbluten.

VII. ELEKTROINCISION UND VEREISUNG

Besonders gern bei Eingriffen an parenchymatösen Organen bedient sich die Chirurgie des elektrischen Messers. Gewebsspalten, Kapillaren und Lymphbahnen werden durch die eintretende Koagulation schlagartig verschlossen. Dadurch wird die gesetzte Wunde abgeriegelt und die Resorption von Zerfallsstoffen und Bakterien aus dem Wundgebiet herabgedrückt. (29). Der Elektroschnitt zeichnet sich dadurch aus, daß die Schnittlinie nicht einen gewöhnlichen Spalt, sondern eine mehr oder minder breite Koagulationsfurche darstellt (13).

a) Histologische Veränderungen nach einer Elektroincision

Betrachtet man einen Ausschnitt aus solch einer Koagulationsfurche kurz nach dem Eingriff unter dem Mikroskop, so fällt auf, daß die Gewebszerstörungen ungleich schwerer sind als nach einer Vereisung. Überall verstreut sind mehr oder weniger ausgesprochene Hitzewaben und -spalten entstanden. In diesen Räumen finden wir zahlreiche Plasma-, Kern- und Erythrozytentrümmer. Die Lumina der Gefäße wirken wie zerrissen und gespalten. Die Zellgrenzen fließen oft ineinander über. Soweit die Leberzellen sich überhaupt noch abgrenzen lassen, erscheinen sie unter einer Verdichtung des Protoplasmas verkleinert. Vielfach sind die Kerne pyknotisch und spindelig ausgezogen, wobei sie alle eine gleichmäßige Richtung zur Schnittfläche hin erkennen lassen. Das periportale Bindegewebe zeigt eine ganz erhebliche Verdichtung. Das Ausmaß der Zerstörungen nimmt zum Rand der Koagulationszone zwar zusehends ab, aber eine scharfe Abgrenzung vom nicht betroffenen Gewebe läßt sich nicht nachweisen. Eine Ursache für solche massive Schädigungen sieht SCHRIDDE neben der Eiweißkoagulation in Wasserdampfexplosionen (25). Das schwer geschädigte Gewebe zerfällt vollkommen nekrotisch. Die regenerativen Heilungsprozesse setzen etwa 24 Stunden später als bei unseren Kälteläsionen ein, nehmen jedoch einen nahezu gleichen Verlauf. Doch kommt es hier häufig zu hartnäckigen Narbenbildungen, wie sie nach unseren Kälteapplikationen nur schwach angedeutet waren.

b) Elektroincision nach Gefrierung

1. Mit der COOPER'schen Sonde froren wir bei einem Kaninchen ein etwa groschengroßes Areal am Leberrand zu einem massiv, harten Gewebsblock. Noch während die Sondenspitze fest am Organ haftete, führten wir den Thermokauter innerhalb der Vereisungszone ganz dicht an ihrem Rand entlang und excidierten so das gefrorene Parenchym. Dabei taute die nur 2 - 3 mm dick vereiste Resektionsfläche auf, ohne daß es zu einer nennenswerten Blutung kam. Bis auf eine Länge von 2 cm erstreckte sich auf der

Leberoberfläche eine schwarz-gelbliche Verschorfungszone. Der excidierte Gewebsblock wies eine derartige Veränderung nur am Rand auf.

2. Bei einem weiteren Versuchstier froren wir mit der Kältekanüle die Spitze des Lobus dexter accessorius so ein, daß nur ein etwa halbmondförmiger Bezirk am Lappenrand unvereist blieb. Dieses noch nicht gefrorene Gewebe resezierten wir mit dem Thermokauter, wobei die Schnittlinie abermals ganz am Rand der Gefrierzone geführt wurde. Dabei wies das entfernte Leberstückchen schwere Verschorfungen auf, die aber auf den noch verbliebenen und gefrorenen Lobusteil nicht übergegriffen hatten.

Auch hier beobachteten wir wiederum das blutende Gefäß im Zentrum des Lappens nach dem Auftauen. Sehr gut dargestellt ließ es sich aber leicht abbinden. Bei diesem Eingriff zogen wir noch einen Zipfel des Omentums an die Schnittfläche heran und verschlossen anschließend die Bauchhöhle.

Das erste dieser Kaninchen wurde nach drei Wochen getötet. Bei der Autopsie fanden wir den von uns behandelten Leberteil gut verheilt. Der Defekt schien schon ein wenig kleiner geworden zu sein und war mit dem Netz verbacken. Das Kaninchen des 2. Versuches verendete 15 Tage nach dem Eingriff aus unbekannter Ursache. Bei einem weiteren Tier führten wir deshalb nochmals den Versuch 2 durch. Doch verloren wir es einige Stunden nach dem Eingriff infolge einer großen Blutung in die Bauchhöhle. Die drei Versuche zeigen jedoch deutlich, daß man durch vorhergehendes Gefrieren die Koagulationsfurche des Thermokauters nur auf einen ganz kleinen Raum beschränken kann. Wir mußten allerdings das elektrische Messer ganz am Rand des gefrorenen Areals führen, da im Zentrum der vereisten Zone nach unseren Beobachtungen die Leitfähigkeit zu einem Elektroschnitt überhaupt nicht ausreichte. Auch das Schneiden mit einem scharfen Skalpell durch den hart gefrorenen Gewebsblock war nicht möglich.

VIII. LOKALE GEFRIERUNG VON CARCINOMGEWEBE

Zwei Ratten, deren Leber nach Fütterung mit einer 12 mg %igen N-Nitrosomorpholin-Lösung total mit einem multizentrischen Carcinom befallen waren, wurden von uns einem Eingriff mit der Cryosonde unterzogen. Es ist bekannt, daß Tumorgewebe recht brüchig ist und oft eine erhebliche Blutungsneigung aufweist. Deshalb dürfte gerade hier die lokale Anwendung von tiefen Temperaturen indiziert sein. Da uns jedoch nur so wenig Versuchsmaterial zur Verfügung stand, beschränkten wir uns auf eine einmalige lokale Vereisung, ohne Resektionen vorzunehmen. Außerdem sei hier noch erwähnt, daß sich für unsere Untersuchungen kleinere, circumscripte Tumoren oder Metastasen besser eignen. Die Leber unserer Versuchstiere waren aber diffus vom Carcinom befallen. Bei beiden Ratten legten wir die Leber frei und setzten die Spitze der Kältesonde auf das pathologisch veränderte Gewebe. Nach einer 6 minütigen Kälteeinwirkung von $-180^{\circ}C$ war ein Bereich von etwa 1,5 cm Breite gefroren. Nach dem Auftauen wurden die Bauchdecken wieder geschlossen. Beide Ratten überstanden den Eingriff gut und wurden nach einer Woche getötet.

Das "bunte" mikroskopische Bild dieses bösartigen Lebertumors läßt sich hier nicht beschreiben. Wir weisen auf die betreffende Arbeit von P. BANNASCH und H. A. MÜLLER hin (3).

7 Tage nach diesem Eingriff zeigt sich unter dem Mikroskop wiederum eine völlig amorphe Gewebsmasse, die genau auf das vorher gefrorene Gebiet beschränkt ist. Tumorzellen lassen sich in diesem Nekroseherd nicht mehr auffinden. Sehr auffällig ist hier die geringe leukozytäre Reaktion. Die nekrotischen Massen sind scharf durch ein schmales Band von jungem, zellreichen kollagenem Bindegewebe umgeben. Darin finden sich auch nur wenige Gallengangsprossungen eingebettet. Als Ergebnis dieser beiden Versuche können wir feststellen, daß eine Gewebsvereisung auch Tumorzellen zerstört. Dabei ist der sich anschließende Reparationsprozeß erheblich verzögert. Auch läßt solches krankhaftes Gewebe nach lokaler Kältebehandlung Leukozytenreaktion und Wachstum von Granulations-

gewebe als Reaktion auf die Koagulationsnekrose im Gegensatz zum Normalfall nahezu vermissen.

IX. DISKUSSION

In unseren Untersuchungen an der Kaninchenleber galt es, zunächst die Wirkung tiefer Temperaturen auf dieses drüsige Organ herauszustellen. Der von der COOPER'schen Sonde ausgehende Kältestrom ließ einen vorher bestimmten Gewebsbezirk sehr rasch hart gefrieren. Die Größe der Vereisungszone konnten wir nach Belieben festlegen; ihr Durchmesser überschritt jedoch bei der von uns verwandten 4, 7 mm-Sonde unter optimalen Bedingungen kaum die 5 cm-Grenze.

Im Zustand des Gefrorensein sind in den betroffenen Zellen jegliche biologischen Funktionen eingestellt. Wir haben also einen Zellbezirk in vivo fixiert.

Eine Veränderung der morphologischen Struktur ergibt sich erst nach dem Auftauen. Makroskopisch beobachteten wir dann das Auftreten eines Ödems. Mikroskopisch verfolgten wir in Zeitabständen den Verlauf einer Koagulationsnekrose. Beides, sowie die bereits nach wenigen Stunden einsetzende Reparation der Läsion, wurden ausführlich beschrieben.

Ein Vorteil bei der Ausschaltung von Gewebe durch tiefe Temperaturen liegt also in erster Linie in der g e z i e l t e n Anwendung und Steuerung des Effektes. Nur die gefrorenen Zellen erwiesen sich nach dem Auftauen als geschädigt. Auch unterblieben während des Eingriffes und im weiteren Verlauf jegliche Blutungen aus der Leber. Die Heilung der Kälteläsion verlief so rasch, daß die nekrotisch zerfallenden Hepatozyten bereits drei Wochen nach dem Eingriff vollständig durch Bindegewebszellen und Gallengangsprossungen ersetzt waren.

Die schonende Art dieses Eingriffes kommt besonders zum Ausdruck, wenn wir einen Vergleich mit der Hitzekoagulation ziehen, welche viel unkontrollierbarer über das geforderte Ausmaß auf die Nachbargebiete übergreift. Bei diesem Verfahren sind die morphologischen Schädigungen besonders in ihrer Quantität um ein Vielfaches stärker. MARSHALL hathat 1941 die Unterschiede beider Eingriffe auf deren Wirkung auf biochemische Reaktionen geprüft. Es handelte sich dabei um Experimente am Katzenhirn. So bemerkt er, - um nur ein Beispiel aus seinen Arbeiten anzuführen -, daß der Anstieg des Milchsäuregehaltes im Gewebe das Vier- bis Zehnfache, nach Gefrieren aber nur das Zwei- bis Dreifache betrug (20).

Weiter halt es, in unseren Experimenten auf die Möglichkeiten einer Anwendung tiefer Temperaturen in der Leberchirurgie hinzuweisen. Wird, wie es bei der Cryobehandlung des Parkinsonismus geschieht, im Gehirn ein Gebiet gezielt ausgeschaltet, so beobachtet man den Erfolg eines solchen Eingriffes an bestimmten Ausfallserscheinungen im Bereich des Gesamtorganismus.

Will man erkranktes Leberparenchym gezielt zerstören, dann wird man besonders darauf bedacht sein, die Progredienz eines lokalen tumorösen oder anderen pathologischen Prozesses, z. B. eines benignen Hämangioms aufzuhalten oder sogar das Leiden selbst zu heilen. Dieses Problem konnten wir aus bereits oben angeführten Gründen nicht eingehend untersuchen.
In zwei Fällen ließen wir die Kältesonde auf Carcinomgewebe einwirken. Die Lebern unserer beiden Versuchstiere waren jeweils diffus von Krebszellen durchsetzt. Der Bereich des erkrankten Organes, welcher von uns vereist worden war, zeigte acht Tage später keine Tumorzellen mehr. Jedoch fanden wir, im Gegensatz zu gleichen Versuchen an gesunden Organen, zu diesem Zeitpunkt noch zahlreiche Anhäufungen von nekrotisch zerfallenen Gewebsmassen; der Reparationsprozeß war hier nur unvollständig und verlangsamt abgelaufen. Da jedoch ein großer Anteil des Tumorgewebes nicht vereist werden konnte, lassen sich aus diesen Beobachtungen keine sicheren Schlüsse ziehen.

Schließlich untersuchten wir noch die Wirkung tiefer Temperaturen auf Blutungen an der Leber und ihre zusätzliche Anwendung beim Eingriff der Elektroincision. Eine diffuse, heftige Parenchymblutung ließ sich nach Gefrierung nahezu stillen. Gefäße größeren Kalibers bluteten zwar weiter, waren aber nun so deutlich markiert, daß wir sie durch Abbindung versorgen konnten. Vereisten wir beim Kaninchen einen der kleinen Leberlappen so, daß lediglich ein Zipfel in der Peripherie verschont blieb, und resezierten diesen dann mit dem elektrischen Messer, so fanden wir die stets auftretende Koagulationsfurche im Gebiet der Schnittfläche auf ein Mindestmaß begrenzt.

Zusammenfassend können wir feststellen, daß die Cryomethode ein äußerst subtiles Verfahren zur gezielten, lokalisierten Leberparenchymschädigung darstellt. Die Möglichkeit der Anwendung dieses Kälteeffektes in der Chirurgie ließ sich an Hand von drei Beispielen aufzeigen: Zerstörung von bösartigem Tumorgewebe, Blutstillung und Reduzierung des Koagulationssaumes beim Elektroschnitt. Diese zuletzt angeführten drei Beispiele erheben hinsichtlich einer erfolgreichen Anwendung tiefer Temperaturen in der Leberchirurgie keinen Anspruch auf Vollständigkeit und sollen nur richtungsweisend für weitere Untersuchungen sein.

X. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 50 Kaninchen wurden lokale Vereisungen an den Lebern durchgeführt. Dazu diente als Kälteerzeuger ein Gerät nach I. S. COOPER. Der Gefrierprozeß ließ nach dem Abtauen eine Läsion mit Ödembildung entstehen. Im weiteren Verlauf entwickelte sich der Zustand einer Koagulationsnekrose. Während sich noch Degenerationsvorgänge abspielten, begannen bereits Demarkation und Reparation. Sie resultierten in erster Linie aus Leukozyteninvasionen und Proliferationen von Bindegewebszellen und Gallengängen. Die Heilung ging so rasch voran, daß 8 Wochen nach dem Eingriff kein Parenchymschaden mehr aufzufinden war. Auf die blutstillende Wirkung der Cryomethode ist bei drei Lappenresektionen hingewiesen worden. Gefrierung und Elektrokoagulation lassen sich gemeinsam anwenden; dabei wird die Verschorfungszone des Elektroschnittes auf ein minimales Ausmaß beschränkt. Tumorzellen werden durch lokales Gefrieren zerstört. Abschließend wird auf Vor- und Nachteile bei der Anwendung der Cryomethode in der Leberchirurgie hingewiesen.

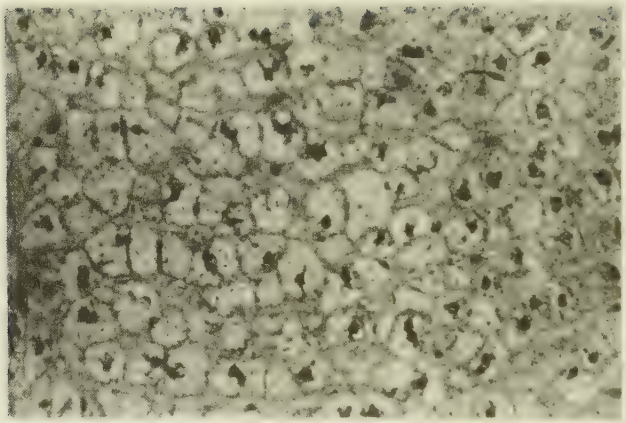

Abb. 1: Färb.: HE, 1 : 375

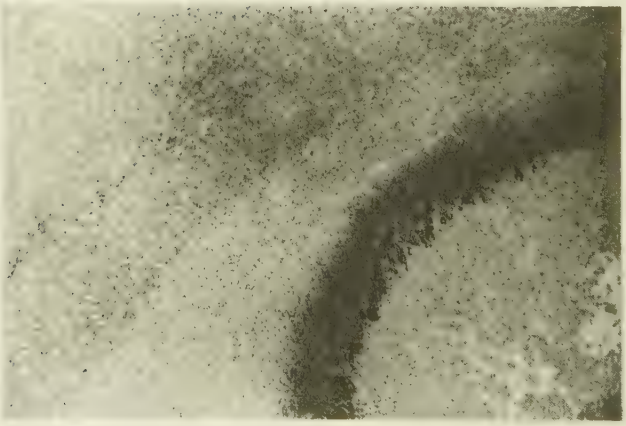

Abb. 2: Färb.: HE, 1 : 74

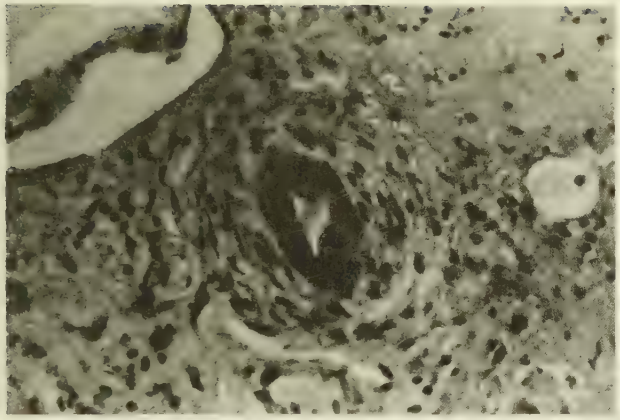

Abb. 3: Färb.: HE, 1 : 375

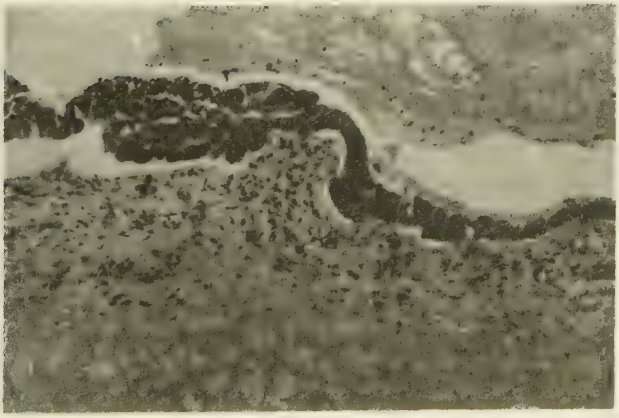

Abb. 4: Färb.: HE, 1 : 150

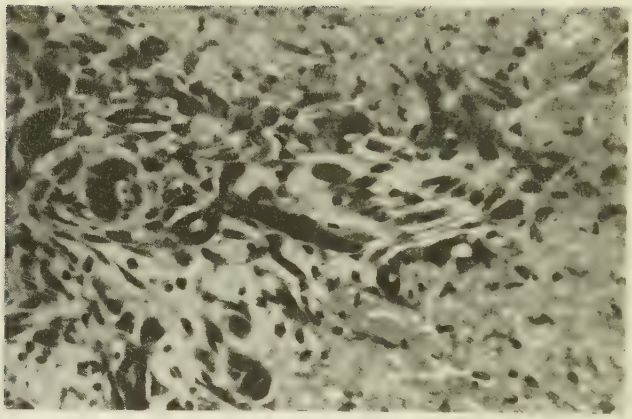

Abb. 5: Färb.: HE, 1 : 375

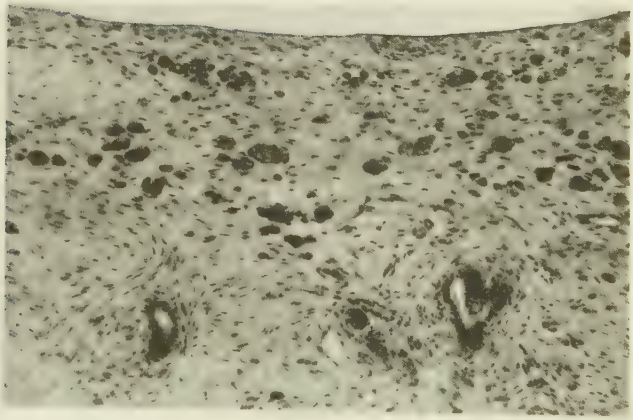

Abb. 6: Färb.: HE, 1 : 150

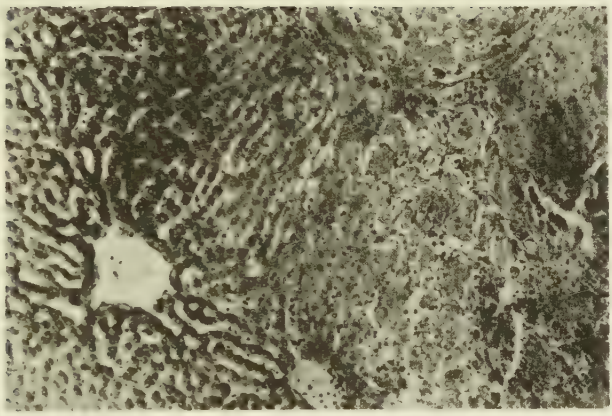

Abb. 7: Färb.: PAS H, 1 : 150

LEGENDE

Alle Aufnahmen stammen von Kaninchenlebern.

Abb. 1: Färb. HE, Vergr. 75-fach.
Dauer des Gefrierens: 2 min; Temperatur -140°C.
Gewebsstück wurde zwei Minuten nach dem Auftauen fixiert.
Deutliche Zellgrenzen, leichte Schwellung der Zelleiber
Zytoplasmaverarmung, Kernpyknose.

Abb. 2: Färb. HE, Vergr. 74-fach.
Dauer des Gefrierens: 4 min; Temperatur -140°C.
Überlebenszeit des Tieres: 24 Stunden.
Leukozytäre Demarkation des Nekroseherdes.

Abb. 3: Färb. HE, Vergr. 375-fach.
Ausschnitt aus demselben Präparat wie Abb. 2.
Zelle eines Gallenganges in Mitose am Rand der Nekrosezone.

Abb. 4: Färb. HE, Vergr. 150-fach.
Dauer des Gefrierens: 4 min; Temperatur -140°C.
Überlebenszeit des Tieres: 48 Stunden.
Proliferierender Gallengang am Rand der Nekrose.

Abb. 5: Färb. HE, Vergr. 375-fach.
Ausschnitt aus demselben Präparat wie Abb. 4.
Bindegewebsproliferationen und Gallengangssprossungen
am Nekroserand.

Abb. 6: Färb. HE, Vergr. 150-fach.
Dauer des Gefrierens: 2 min; Temperatur -80°C.
Überlebenszeit des Tieres: 6 Wochen.
Völliger bindegewebiger Ersatz, nur noch wenige Gallengänge, Hämosiderinablagerungen; Andeutung einer Narbenbildung.

Abb. 7: Färb. PAS, Vergr. 150-fach.
Glycogenschwund 8 Stunden nach dem Eingriff.

Weitere Angaben im Text.

An dieser Stelle möchte ich es nicht versäumen, Herrn Professor Dr. med. K. Stucke für die Überlassung des Themas, sowie für seine kritischen Ratschläge und zahlreichen Anregungen meinen herzlichen Dank auszusprechen.
Ebenfalls gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. G. Dhom, der mich bei der Anfertigung und Auswertung der histologischen Präparate beriet. Herrn Professor Dr. med. W. Wachsmuth danke ich für die Übernahme des Korreferates. Diese Arbeit wurde aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht.

XII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ARNOTT, J.: On the treatment of cancer, by the regulated application of an anaesthetic temperature. J. Churchill i. v. 32 pp, London (1851)

2. BALTHASAR, K. L.: Gezielte Kälteschäden in der Großhirnrinde der Katze. Dtsch. Z. f. Nervenheilk. 176, 173-199 (1957)

3. BANNASCH, P. und H. -A. MÜLLER: Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von N-Nitrosomorphilin auf die Leber von Ratte und Maus. Arzneim. -Forsch. (Drug. Res.), 14, 805-814 (1964)

4. BAUER, K. H.: Experimentelle und histologische Untersuchungen über die Blutstillung mit Hochfrequenzströmen. Langenbecks Arch. klin. Chir. 162, 325 (1930)

5. CARRARO, A.: Über Regeneration in der Leber. Virch. Arch. path. Anat. 195, 462 (1909)

6. COOPER, I. S., F. GRISMANN und P. JOHNSTON: Complete Systeme for Cryogenic-Surgery. New York St. Barnabas Hospital Med. Bull. 1, 11-16 (1962)

7. COOPER, I. S.: A Cryogenic Method for Physiologic Inhibition and Production of Lesions in the Brain. J. Neurosurg., 10, 853-858 (1962)

8. COOPER, I. S.: Results of 1000 consecutive Basal Ganglia Operations for Parkinsonnism. Ann. Intern. Med. 3, 483-499 (1960)

9. COOPER, I. S. und S. STELLAR: Cryogenic freezing of Brain Tumors for excision or destruction in situs. J. Neurosurg. 20, 921-930 (1963)

10. COOPER, I. S. und G. BRAVO: Chemopallidectomy and Chemothalamectomy. J. Neurosurg. 15, 244-250 (1963)

11. COOPER, I. S. — Cryogenic Surgery. A New Method of destruction or extirpation of benign or malignant tissues. New Engl. J. Med. 268, 743-749 (1963)

12. DIEPGEN, P.: — Geschichte der Medizin. Berlin: Walter De Gruyter % Co (1949/55)

13. EHLERS, P. N.: — Die Wundheilung an der Leber nach elektrisch gesetzter Verletzung. Langenbecks Arch. klin. Chir. 291, 399-431 (1959)

14. GERLACH, J., D. MEINHARDT, G. PESCHEL, H. SPULER, K. STUCKE: — Grundlagen der operativen Anwendung tiefer Temperaturen in der klinischen Medizin I. Abkühlung und Eisbildung durch Kältesonde in wässrigen Lösungen. Ztschr. f. d. ges. experim. Med. 140, 230-247 (1966)

15. GERLACH, J., G. PESCHEL, E. SCHUBERT, H. SPULER, K. STUCKE: — Grundlagen der operativen Anwendung tiefer Temperaturen in der klinischen Medizin II. Das Verhalten von Gewebe in vitro bei lokalisierter Abkühlung und Vereisung. Ztschr. f. d. ges. experim. Med. 140, 248-255 (1966)

16. HASS, G. M. und B. TAYLOR: — A quantitative hypothermal method for the production of local injury of tissue. Arch. Path. 45, 563-580 (1948)

17. HOCKHAUS, H.: — Über Gewebsveränderungen nach lokaler Kälteeinwirkung. Virch. Arch. path. Anat. 154, 320 (1898)

18. HOLLEMANN, A. F. und E. WIBERG: — Lehrbuch der anorganischen Chemie. Berlin: Walter De Gruyter & Co. 37. Aufl., 51 (1964)

19. KANDEL, A. J.: — "Vervollkommnung der Methode der örtlichen Einfrierung subcorticaler Strukturen bei stereotaktischen Operationen am Gehirn" (russ.). Voprosi Neirochirurgii 4, 51-54 (1962)

20. MARSHALL, C., L. NIMS, W. STONE: — Chemical changes in cerebral cortex following local thermocoagulation and local freezing. Yale J. Bio. Med. 13, 485-488 (1941)

21. OPENSCHOWSKI, P.: Sur l' action localiseè du froid appliquéa la surface de la region corticale du cerveau. Compt. rend. Soc. de biol. 5, 38-43 (1883)

22. PRECHT, H., J. CHRISTOPHERSEN, H. HENZEL: Temperatur und Leben. Berlin: Springer (1955)

23. POPPER, H., F. SCHAFFNER: Die Leber, Struktur und Funktion. Stuttgart: Georg Thieme (1961)

24. SERRA, P., A. BRUNSWIG: Freezing of liver parenchym with liquid nitrogen for hemostasis in excisional liver surgery. Cancer Vol. 8, 6 (1955)

25. SEEMEN v. H.: Allgemeine und spezielle Elektrochirurgie. Berlin: Springer (1939)

26. SMITH, L.: Refrigeration in cancer pathologic observations in 100 advanced cancer cases. New York State J. Med. 40 (1940)

27. STUCKE, K.: Leberresektionen. Langenbecks Arch. klin. Chir. 284, 669 (1956)

28. STUCKE, K.: Leberchirurgie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer (1959)

29. TAMMAN, H.: Wundheilung unter besonderer Berücksichtigung neuerer Ergebnisse Bruns' Beitr. klin. Chir. 157, 73 (1963)

Lebenslauf

Am 30. August 1939 wurde ich als Sohn des Dr. med. Josef Kahlert und seiner Ehefrau Rosel, geb. Kasper, in Osnabrück geboren.

Nach fünf Jahren Volksschule besuchte ich das Gymnasium Carolinum zu Osnabrück, an dem ich am 25. Februar 1961 mein Abitur ablegen konnte.

Das Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1961 an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Nach fünf Semestern bestand ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg die Medizinische Vorprüfung. In den letzten klinischen Semestern studierte ich wiederum an der Universität Würzburg.

Am 21. 12. 1966 schloß ich in Würzburg mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen ab.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Hans Kahlert

OFFSETDRUCK GUGEL
87 Würzburg, Burkarderstr. 9

OFFSETDRUCK GUGEL
87 Würzburg, Burkarderstr. 9